VERLAUF DER KRYPTOSPORIDIENINFEKTION DES KALBES IN RINDERZUCHT-BETRIEBEN SOWIE MÖGLICHKEITEN DER DESINFEKTION

Evelyne Stein

1983

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

VERLAUF DER KRYPTOSPORIDIENINFEKTION DES KALBES IN RINDER-ZUCHTBETRIEBEN SOWIE MÖGLICHKEITEN DER DESINFEKTION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Evelyne Stein
aus
München

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. G. Terplan

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. J. Boch

Korreferent: Prof. Dr. J. Meyer

Tag der Promotion: 25. Februar 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Kryptosporidieninfektionen bei Kälbern sowie Desinfektion gegen Kokzidienoozysten (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	12
A. Material und Methoden	12
B. Ergebnisse	17
1. Oozysten/Sporozystenausscheidung und Klinik	17
2. Orientierende Laborversuche mit Desinfektionsmitteln	24
IV. Besprechung der Ergebnisse	27
V. Zusammenfassung	34
Summary	35
VI. Literaturverzeichnis	36
Lebenslauf	

I. Einleitung

In der modernen Massentierhaltung stellen Durchfallerkrankungen ein Hauptproblem in der Kälberaufzucht dar und führen in vielen Beständen zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten. Teilweise wurden Rota- und Coronaviren und Escherichia coli für die neonatale Kälberdiarrhoe verantwortlich gemacht. Neuere parasitologische Untersuchungen erbrachten auch Kryptosporidien in derartigen Problembetrieben.

Diese Kokzidien der Gattung Cryptosporidium wurden bisher beim Menschen und bei 21 Tierarten nachgewiesen. Ihr Entwicklungszyklus und die dadurch entstehenden histologisch und elektronenmikroskopisch nachweisbaren Veränderungen der Darmwand wurden bereits an verschiedenen experimentell infizierten Tieren dargestellt. Angaben über den genauen Verlauf natürlicher Kryptosporidieninfektionen sind nur spärlich.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte in 4 Rinderzuchtbetrieben über einen längeren Zeitraum regelmäßig durch koproskopische Untersuchungen die Ausscheidung von Sporozysten bei Kälbern verfolgt werden. Gleichzeitig wurde versucht, das Infektionsgeschehen mit den Haltungsbedingungen in den Betrieben in Beziehung zu setzen. In orientierenden Laborversuchen schließlich wurde die Möglichkeit einer Desinfektion überprüft.

II. Kryptosporidieninfektionen bei Kälbern sowie Desinfektion gegen Kokzidienoozysten (anhand der Literatur)

Kryptosporidien sind Kokzidien der Unterordnung Eimeriina und wurden 1907 von TYZZER im Magen der Hausmaus entdeckt. Er bezeichnete sie als Cryptosporidium muris. Später gelang die Darstellung des Zyklus mit geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Vermehrung und Oozystenbildung (TYZZER, 1910). Die Möglichkeit der Übertragung der Infektion durch Verfütterung von Mageninhalt infizierter Mäuse auf andere Mäuse, jedoch nicht auf Ratten, führte zur Annahme einer Wirtsspezifität. Ausserdem fand TYZZER (1912) im Dünndarm der Hausmaus eine weitere, aber kleinere Art, die er als Cryptosporidium parvum bezeichnete. Seither wurden Kryptosporidien weltweit in 11 Säugetier-,5 Vogel- und 5 Schlangenarten und beim Menschen (BOCH und Mitarb., 1982) nachgewiesen.

PANCIERA, THOMASSEN und GARNER (1971) fanden Kryptosporidien im Dünndarm eines 8 Monate alten Kalbes mit chronischer Diarrhoe. Verschiedene Entwicklungsformen waren im Mikrovillisaum des Epithels sichtbar, die Zotten erschienen verkürzt und verbreitert. Histologisch und anhand von Darmveränderungen konnten BARKER und CARBONELL (1974) bei einem 2 Wochen alten Durchfallkalb in Australien den Parasiten nachweisen; das Tier war trotz Antibiotikabehandlung verendet.

MEUTEN, VAN KRUININGEN und LEIN (1974) sahen in elektronenmikroskopischen Aufnahmen bei einem 2 Wochen alten Kalb in den USA Stadien in den Lieberkühnschen Drüsen und eingebettet im Mikrovillisaum von Dünndarm und Dickdarm. Sie nahmen eine Pathogenität des Erregers an, da mikrobiologisch kein anderer Keim gefunden wurde. In den nächsten Jahren berichteten SCHMITZ und SMITH (1975) sowie POWELL, HOLSCHER und HEATH (1976) von je einem schwer an Durchfall erkrankten Kalb mit Kryptosporidien im Darm, wobei bei einem Tier

E. coli und Coronaviren, beim anderen Coronaviren zusätzlich nachgewiesen wurden.

Bei der Untersuchung von 35 Diarrhoe-Kälbern in Kanada fanden MORIN, LARIVIERE und LALLIER (1976) neben Viren, Bakterien und Pilzen auch Kryptosporidien bei 11 Tieren aus 3 Herden. Nur 5 Kälber waren ausschließlich von diesen Kokzidien befallen; der Nachweis des Erregers im Kot gelang nicht.

Den koproskopischen Nachweis erbrachten POHLENZ und Mitarb. (1978), nachdem sie zuvor bei 8 von 23 neugeborenen Kälbern mit Durchfall im Alter von 6 - 17 Tagen histologisch Kryptosporidien festgestellt hatten. Sie verwendeten bei 9 histologisch positiven Tieren Geschabsel der Ileumschleimhaut und Kot; davon stellten sie Ausstriche her und färbten diese nach Giemsa. Dabei waren alle Ileum-, jedoch nur 8 Kotausstriche positiv. Die gefundenen Gebilde hatten einen Durchmesser von 2 - 4 µm, waren blau bis blaugrün und enthielten rote Granula und Vakuolen. Einige Kryptosporidienstadien im Kot hielten die Autoren bei elektronenoptischer Untersuchung für Oozysten. Weiter stellten sie fest, daß der histologische Nachweis nach 12 Stunden Autolyse bei Raumtemperatur nicht mehr gelang. Die Autoren sahen Kryptosporidien als häufig vorkommende enteropathogene Keime des Kalbes an.

Auch PEARSON und LOGAN (1978) fanden in Großbritannien bei einem 7 Tage alten Kalb im distalen Teil des Dünndarms lichtmikroskopisch, transmissions- und rasterelektronenmikroskopisch den Parasiten. Ferner wiesen bei 3 verendeten Durchfallkälbern im Alter von 13 - 14 Tagen NAGY, ANTAL und RATZ (1979) Kryptosporidien und für sie typische Veränderungen im Dünndarm nach. Enteropathogene E. coli, Rota- oder Coronaviren waren nicht vorhanden. Etwas später fanden NAGY,

ANTAL und LAKNER (1980) im Rahmen größerer Untersuchungen in Ungarn bei 134 (27 %) von 497 bis zu 4 Wochen alten Durchfallkälbern und bei 1 von 25 Kälbern ohne Durchfall Kryptosporidien in Ileumschnitten und Kotproben. Die positiven Tiere kamen aus 39 von 110 untersuchten Herden, wobei die Infektionsrate in einzelnen Betrieben bis zu 100 % betrug. Neben Kryptosporidien konnten auch enteropathogene E. coli, Rota- und Coronaviren vereinzelt nachgewiesen werden. Die Erkrankung führte in einem mit Kryptosporidien infizierten Bestand zum Tode von 40 % der Tiere, die pastösen, schleimigen und übelriechenden Kot ausschieden. Nach Verabreichung von Ileumgeschabsel infizierter Tiere an 4 gesunde Kälber trat bei 3 am 3. Tag Durchfall auf, obwohl bei ihnen außer Kryptosporidien keine anderen enteropathogene Erreger gefunden wurden; dagegen waren bei einem der beiden Kontrollkälber, das ebenfalls Durchfall bekam, enteropathogene E. coli und Rotaviren vorhanden.Außerdem berichteten NAGY und POHLENZ (1982) von 132 weniger als 4 Wochen alten Durchfallkälbern aus der Züricher Umgebung, von denen 39 (28 %) mit dem Parasiten infiziert waren. Dagegen traten bei 11 Tieren ohne Diarrhoe kein einziges Mal Kryptosporidien auf.

In Schottland wiesen SNODGRASS und Mitarb. (1980) bei Erstlingskälbern sowohl licht- und elektronenmikroskopisch im Ileum als auch koproskopisch Kryptosporidien nach. Aus Dänemark berichteten HENRIKSEN und KROGH (1980) über 7 positive Kälber von 43 toten Enteritiskälbern.

TZIPORI und Mitarb. (1980b) fanden in einer Herde von 41 Saugkälbern in Großbritannien 35 Tiere mit Durchfall. Kotproben wurden von allen Tieren am 6. und 14. Tag nach der Geburt und zusätzlich von Durchfallkälbern am ersten Krankheitstag entnommen. Dabei konnten Kryptosporidienoozysten bei 18 (60 %) von 31 untersuchten Durchfallkälbern im nach

Giemsa gefärbten Ausstrich gefunden werden. Die Untersuchung auf K 99 tragende E. coli sowie auf Rota- und Coronaviren blieb in dieser Herde negativ. Durchfall begann ab 1 Woche p.p. und dauerte mit Unterbrechungen mindestens 2 Wochen. Im allgemeinen zeigten die Tiere nur geringe Krankheitsanzeichen, woraufhin sie symptomatisch behandelt wurden. Das jüngste Kalb mit Oozystenausscheidung war 6 Tage, das älteste 26 Tage alt. Die Autoren infizierten anschließend ein 7 Tage altes Kalb mit 10 ml oozystenhaltiger Kotsuspension experimentell. 9 Tage nach Inokulation begann der Durchfall, gleichzeitig wurden Kryptosporidien ausgeschieden. Das sofort getötete Tier beherbergte keine anderen Erreger.

POHLENZ (1980) verabreichte 4 Kälbern Ileumschleimhaut von infizierten Tieren. 48 Stunden später schieden alle wässrigen Kot aus, wobei die Rektaltemperatur 39 - 40,2 °C betrug. Die Faeces enthielten zunächst Blut und Fibrin, später Fibrin und Schleim. Der Durchfall dauerte bis zur Tötung der Tiere am 3., 6., 9. und 12. Tag an. Kryptosporidien wurden histologisch im Dünndarm aller 4 Kälber, im Zäkum von 3 und im Kolon von 2 Kälbern nachgewiesen. Daraus schloß der Autor, daß diese Kokzidien am Durchfall beteiligt waren oder ihn sogar verursacht hatten.

Der erste Nachweis von Kryptosporidieninfektionen bei Kälbern in Deutschland wurde von HEINE und BOCH (1981) mitgeteilt. Mit Hilfe von nach Giemsa gefärbten Ausstrichen untersuchten sie den Kot von 597 lebenden Kälbern und den Rektuminhalt von 23 an Enteritis verendeten Tieren aus kleinen Betrieben und einem Großbestand. Von den Tieren im Alter bis zu 5 Tagen schied keines Kryptosporidien im Kot aus. 39,6 % der Durchfallkälber und 13,7 % der Kälber ohne Durchfall im Alter von 6 - 28 Tagen zeigten Oozysten im Kot; 60,9 % der verendeten Tiere waren ebenfalls positiv. Die Autoren verwendeten die Anreicherung durch Flotation

und den einfachen Kotausstrich, beide mit anschließender Giemsa-Färbung. Bei der zweiten Methode stellten sich bei mikroskopischer Betrachtung die Oozysten als etwa 5 µm große, runde bis leicht ovale Gebilde dar; sie waren meist nicht angefärbt und wiesen schattenhafte Innenstrukturen auf. Dieses Verfahren wandten auch FIEDLER, BÄHR und HIRCHERT (1982) bei der Untersuchung von 254 Proben aus dem Raum Oldenburg an. Von den 6 Tage bis 4 Wochen alten Tieren konnten damit bei 37.6 % Kryptosporidien nachgewiesen werden.

ANTOINE und Mitarb. (1981) berichteten erstmals aus Frankreich von Kryptosporidien bei zwei 12 und 15 Tage alten Kälbern mit Durchfall ab dem 9. bzw. 4. - 5. Lebenstag. Eine Behandlung mit Antibiotika blieb erfolglos. Beim zweiten Kalb wurden Rotaviren festgestellt; darauf führten die Autoren den frühen Beginn des Durchfalls zurück. PIVONT und Mitarb. (1981) stellten in Belgien bei einem zur Autopsie eingelieferten Kalb neben Kryptosporidien im Ileum auch Proteus im Darm und Rotaviren im Kot fest. Sie hielten den Parasiten für eine der Ursachen der neonatalen Kälberdiarrhoe. Erstmals in der CSSR wies PAVLASEK (1981) histologisch im Ileum Kryptosporidien und Mikrovilliatrophie bei 2 notgeschlachteten 14 Tage alten Kälbern nach.

In den Vereinigten Staaten beschrieb ANDERSON (1981) die Ausscheidung von Kryptosporidien-Oozysten bei 15 natürlich infizierten Kälbern. Die koproskopische Untersuchung erfolgte täglich von der Geburt bis zum 20. Lebenstag; die Ausscheidung begann mit 5 - 12 Tagen und dauerte 3 - 12 Tage. Der Kot war wässrig, gelb und z.T. mit Blut, Schleim und Gasblasen vermischt.

In Australien fanden JERRET und SNODGRASS (1981) Kryptosporidien in 17 von 28 Durchfallkälbern und in 12 von 14

Tieren ohne Durchfall. HOWERTH (1981) berichtete von einem 2 Wochen alten Durchfallkalb aus Südafrika, in dessen distalem Dünndarm Kryptosporidien im Mikrovillisaum und entsprechende Veränderungen festgestellt wurden.

KIUPEL und BERGMANN(1982) fanden im Gebiet von Rostock in 15 Beständen vor allem bei Durchfallkälbern im Alter von 7 Tagen bis 4 Wochen Kryptosporidiose. Die Autoren setzten zur Therapie Sulfonamide oral erfolgreich ein.

POL und Mitarb. (1982) und HAGE-NOORDAM, POL und DE LEEUW (1982) wiesen bei 4 bzw. 12 Kälbern mit und ohne Durchfall in den Niederlanden Kryptosporidien nach. Schließlich untersuchten in Belgien PEETERS, VAN OPDENBOSCH und GLORIEUX (1982) 20 Mastkälber ab dem Alter von 3 - 9 Tagen 4 Wochen lang. 17 Tiere schieden Oozysten im Kot aus, wobei das Maximum am 10. Tag nach der Einstallung im Maststall lag. Die durchschnittliche Ausscheidungsdauer betrug 11 Tage; dabei hatten nur 4 Tiere Durchfall. Die Autoren verwendeten zum Nachweis vergleichend die May-Grünwald-Giemsa-Methode, das kombinierte Sedimentations-Flotationsverfahren und die Karbolfuchsinmethode (CF) nach HEINE (1982). Trotz etwa gleicher Ergebnisse bewerteten sie die CF-Methode als das einfachste und schnellste Verfahren.

Zur experimentellen Infektion von 17 Kälbern im Alter von 1 - 21 Tagen verwendeten MOON und BEMRICK (1981) Kot von Kryptosporidienausscheidern. Das Material wurde vorbehandelt, um die Oozysten zur Sporulation zu bringen. Alle Kälber schieden im Durchschnitt 4,4 Tage nach Inokulation Kryptosporidien aus. Die Präpatenz betrug bei einem Kalb nur 1, bei einem anderen mehr als 7 Tage. Die Ausscheidung dauerte durchschnittlich 10 Tage. Etwa gleichzeitig zeigten die Tiere Durchfall. Bei 5 von 9 Kontrollkälbern trat zwar ebenfalls Diarrhoe, allerdings nur schwach und kurz,

auf. Keinen Unterschied zu den obigen Tieren fanden sie bei 2 mit direkt aus dem Rektum entnommenem Kot infizierten Kälbern. Die Autoren glaubten, daß ausschließlich Kryptosporidien diese Läsionen und die Durchfälle verursachten.

Die Übertragung der Kälberkryptosporidien auf Mäuse und 5 andere Tierarten gelang erstmals TZIPORI und Mitarb. (1980c). Sie verwendeten Ileuminhalt eines mit Kälberkot infizierten Kalbes, der keine enteropathogenen Viren oder E. coli enthielt. Die Mäuse, die im Alter von 1 Tag oral infiziert worden waren, schieden nach 5 Tagen 8 Tage lang Kryptosporidien aus, erkrankten aber dabei klinisch nicht. Die Autoren erwähnten in dieser Arbeit die Schwierigkeit der Isolierung von Kryptosporidienoozysten, die bei anderen Kokzidien durch Flotation oder Sporulationstechnik möglich wäre, nicht jedoch bei Kryptosporidien.

Mit aus Kälberkot angereichten Dauerstadien infizierten HEINE und BOCH (1981) Schafe, Ziegen, Kaninchen, Ratten und Mäuse erfolgreich. Die 3 - 5 Tage alten Mäuse erhielten oral 10^6 Oozysten/Sporozysten und schieden 4 - 6 Tage später 5 - 14 Tage lang Kryptosporidien im Kot aus. REESE und Mitarb. (1982) übertrugen auch auf erwachsene Mäuse Infektionsmaterial vom Menschen und von Kälbern; dabei schieden diese älteren Tiere ebenso Kryptosporidien aus wie neugeborene.

BRÄNDLER (1982) infizierte 3 - 7 Tage alte Babymäuse, um licht- und elektronenmikroskopisch die einzelnen Entwicklungsstadien des Parasiten darzustellen. Sie fand ab 84 Stunden nach der Inokulation bis zum 7. Tag sämtliche Entwicklungsstadien gleichzeitig im Ileum, vereinzelt auch im Kolon. Sie schloß damit eine Autoinfektion nicht aus. Die Sporulation der Oozysten fand im wesentlichen bereits in der Darmwand statt; einzelne Oozysten befanden sich auch im

Kot. Sporozysten waren ab 4. Tag im Rektuminhalt nachweisbar.

Weitere Übertragungsversuche führte SCHLOEMER (1982) durch, indem er Kryptosporidien aus Kälberkot an neugeborene Mäuse, Meerschweinchen, Hamster, Schweine, Ziegen und frisch geschlüpfte Hühner verabreichte. Durch orale Gabe unterschiedlicher Mengen von Kryptosporidien an Babymäuse fand er eine Abhängigkeit des Infektionsverlaufes von der Dosishöhe. Bei Tieren, die je 3×10^4 Oozysten/Sporozysten erhielten, verlängerte sich die Präpatenzzeit denen gegenüber, die jeweils 6×10^5 erhielten. Bei Verabreichung von je 3×10^3 Keimen an 6 Mäuse schied nur eine Kryptosporidien aus.

Mehrere Autoren berichteten von Kryptosporidiose beim Menschen nach Immunsuppression (MEISEL und Mitarb., 1976; WEISBURGER und Mitarb., 1979; LASSER, LEWIN und RYNING, 1979; BOOTH und Mitarb., 1980; SLOPER und Mitarb., 1981). Jedoch wurden auch bei gesunden Menschen Kryptosporidien gefunden (NIME und Mitarb., 1976; TZIPORI und Mitarb., 1980a; REESE und Mitarb., 1982; ANDERSON und Mitarb., 1982).

Über Versuche zur Abtötung von Kryptosporidien durch Desinfektionsmittel liegen bisher keine Berichte vor. Da aber davon ausgegangen werden kann, daß Kryptosporidiendauerstadien ebenso widerstandsfähig sind wie die Oozysten von Eimeria oder Isospora, sollen hier einige einschlägige Literaturangaben zitiert werden.

Mit der Abtötung von Kokzidienoozysten durch Chemikalien befaßte sich ENIGK (1936) ausführlich. Er wies darauf hin, daß die innere semipermeable Membran der Oozysten hauptsächlich aus fettartigen Substanzen aufgebaut wäre; durch 2 % Schwefelkohlenstoff konnten nach 30 Sekunden, bei Zusatz von 2 % Phenol sogar nach 20 Sekunden Oozysten von

Eimeria perforans zumindest am Versporen gehindert werden. Die 6 %-ige wässrige Lösung von Dekaseptol tötete unversporte Kokzidienoozysten in 4, versporte in 9 Minuten vollständig ab (ENIGK, 1949). In späteren Untersuchungen von ENIGK und HILBRICH (1968) genügte sogar eine zweiminütige Behandlung mit Dekaseptol zur Verhinderung der Sporulation. Etwas andere Ergebnisse erzielte HEIDE (1973) bei Eimeria tenella. Nach 60minütiger Einwirkzeit von Dekaseptol auf die Oozysten schieden alle damit infizierten Versuchstiere Dauerstadien aus. Nach JANITSCHKE und JÖRREN (1972) waren Oozysten von Toxoplasma gondii aus Katzenkot erst nach 6-stündiger Behandlung mit diesem Präparat in 3%- und 6%-Lösung nicht mehr infektiös für Mäuse. In 9%-iger Konzentration waren sie bereits nach 10 Minuten abgetötet.

STEDE (1971) fand bei Versuchen mit Lysococ an verschiedenen Kokzidienarten sehr unterschiedliche Empfindlichkeiten. So konnte sie unsporulierte Oozysten von E. tenella und E. nieschulzi mit 10 % Lysococ nach 30 und 20 Minuten abtöten; Oozysten von E. scabra sporulierten jedoch noch nach 1 Stunde Einwirkzeit. Gegen sporulierte Oozysten war das Mittel unwirksam. Demgegenüber stellte HILBRICH (1975) fest, daß 5 % Lysococ gegen unsporulierte und sporulierte Oozysten von E. tenella im Suspensionsversuch nach 2, im Keimträgerversuch nach 30 Minuten voll wirksam war. SCUPIN und HENNE (1975) konnten erst nach 60minütiger Einwirkzeit von Dekaseptol und Lysococ auf unsporulierte Oozysten von Geflügelkokzidien die Sporulation verhindern. Gegen sporulierte Oozysten war keines der beiden Mittel wirksam. Zu diesem Ergebnis kam auch EL-MOUKDAD (1976), nachdem er sporulierte Oozysten eines Kokzidienmischstammes 90 Minuten lang mit 6 % Dekaseptol und 5% Lysococ behandelt hatte. Dagegen war SCUPIN (1977) mit sporulierten Oozysten, die er 10 Minuten lang 5 % Incicoc ausgesetzt hatte, bei Versuchstieren keine Infektion mehr möglich.

ENIGK (1979) sah die unterschiedliche Wirksamkeit im Aufbau der Oozysten- und Sporozystenhülle von Eimeria- und Isospora-Arten begründet. Durch die verschiedenartige Beschaffenheit der einzelnen Membranen werde das Eindringen von Chemikalien außerordentlich erschwert. Versporte Oozysten seien noch widerstandsfähiger, weil bei der Sporozystenwand mehrere Elementarmembranen verschmolzen sind. Er stellte fest, daß Schwefelkohlenstoff am besten die Lipoide aus der Zystenhülle lösen könne.

BARUTZKI (1980) testete u.a. Dekaseptol, Incicoc und Lysococ in einfacher und eineinhalbfacher angegebener Konzentration im Suspensionsversuch. Er fand dabei kein Mittel, das in 90 bzw. 120 Minuten sporulierte Oozysten von E. tenella, E. brunetti, Cytoisospora canis, Toxoplasma gondii oder Sporozysten von Sarcocystis muris vollständig abtöten konnte; lediglich 5 % Incicoc vernichtete nach 10 Minuten Sporozysten von Sarcocystis suicanis.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Es wurden insgesamt 72 Kälber aus 4 größeren Rinderzuchtbetrieben (A, B, C, D) im Umland von München auf Kryptosporidien untersucht. Die Kälber waren sofort nach der Geburt in Einzelboxen untergebracht worden, die während der ersten Tage mit Rotlicht zusätzlich erwärmt wurden. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich mit Kolostrum bzw. Muttermilch bis zum 10. bis 14. Lebenstag. Danach wurde Milchaustauscher verabreicht. Die Tränkeeimer waren außer in Betrieb A während der Kolostralfütterung nicht gekennzeichnet. In Betrieb C stand den Tieren zwischen den Tränkzeiten Wasser im Eimer zur Verfügung. Heu wurde etwa ab 14 Tage p.p. angeboten.

In den Betrieben A, B und D wurden die Kälber im Alter von 8 - 27 Tagen in Sammelboxen umgestallt, während sie in C über die Untersuchungszeit in ihren Boxen verblieben; lediglich die Einstreu wurde zweimal im Monat gewechselt. Die Einzelboxen wurden außer in A nach jeder Besetzung mit dem Dampfstrahlgerät gereinigt und außer in B mit verschiedenen Desinfektionsmitteln, die allerdings nicht spezifisch gegen Kokzidienoozysten wirkten, besprüht. Im Zuchtbetrieb B wurden die Tiere am ersten Tag nach der Geburt mit stallspezifischem Serum gegen Escherichia coli, Pasteurellen und Salmonellen geimpft.

Ab der Geburt bis zum Alter von 4 Wochen entnahm ich den Kälbern dreimal wöchentlich, zum Teil auch täglich (C), rektal Kot mit Einmalhandschuhen. Die Faeces wurden am gleichen Tag untersucht oder bis zum nächsten Tag bei 5 - 7 °C aufbewahrt. Die Überprüfung erfolgte mit der von HEINE (1982) beschriebenen Nativtechnik. Dazu wurden etwa

3 µl des Kälberkotes mit 3 µl Karbolfuchsin (Merck Nr. 9215) auf einem Objektträger vermischt und gleichmäßig ausgestrichen. Nach Lufttrocknung erfolgte die Durchmusterung des Präparates mit Immersionsöl bei 500facher Vergrößerung. Kryptosporidien stellten sich als farblose, runde bis ovale Gebilde von 3,5 - 5 µm Größe mit lichtbrechender Hülle dar. Im Innern waren die vier Sporozoiten als graue Schatten und der Restkörper als schwarzer Punkt erkennbar. Die Untersuchung mußte rasch erfolgen, da die Zysten auf dem Präparat nach etwa 10 Minuten auszutrocknen begannen, wobei die Hülle einbrach und schließlich ganz verschwand. Zum Vergleich wurden von einem Teil der Proben zusätzlich Ausstriche angefertigt, die nach 5 Minuten Methanolfixierung 30 Minuten lang nach Giemsa gefärbt wurden. Die Auszählung erfolgte semiquantitativ und quantitativ. Bei erster Technik wurden 10 Blickfelder ausgezählt und der Durchschnittswert pro Blickfeld folgendermaßen bewertet: weniger als 1 Kryptosporidium = + schwacher Befall; 1 - 5 Kryptosporidien = ++ mäßiger Befall; 6 - 20 Kryptosporidien = +++ mittelgradiger Befall; mehr als 20 Kryptosporidien = ++++ hochgradiger Befall.
Bei der quantitativen Methode verrührte ich eine definierte Menge Kot mit der gleichen bzw. vielfachen Menge Karbolfuchsin. Daraus entnahm ich 1 µl, den ich auf dem Objektträger mit einer Nadel gleichmäßig ausstrich und nach Trocknung mit Öl bedeckte. Auf dem gesamten Ausstrich wurden im Abstand von 3 mm vertikale Bahnen ausgezählt und das Ergebnis auf 1 ml Kot umgerechnet. Neben der mikroskopischen Untersuchung des Kotes hielt ich auch seine Konsistenz fest.

Des weiteren wurden experimentelle Infektionen durchgeführt. Verwendet wurden 3 neugeborene Kälber der Rasse Holstein-Friesian aus Betrieb C (Nr. 1, 2 und 3). Die Tiere wurden am Tag der Infektion in einen Mehrzweckstall ver-

legt, wo sie gemeinsam in einer Box mit Stroheinstreu untergebracht wurden. Sie bekamen ab der 2. Lebenswoche Milchaustauscher zweimal täglich verabreicht. Die Einstreu wurde wöchentlich zweimal gewechselt.

Als Infektionsmaterial diente bei den Kälbern 1 und 2 über Mäusepassagen von enteropathogenen Erregern befreiter kryptosporidienhaltiger Kälberkot. Er wurde unter Zusatz von Wasser zu einer feinen Suspension verrührt. Kalb Nr. 3 erhielt 12 Tage später Kryptosporidien enthaltenden Kot der beiden anderen Versuchskälber, der mit Wasser verrührt, durch ein 100 µm feines Filter gesiebt und dann 10 Minuten bei 1000 Umdrehungen (180 g) zentrifugiert worden war.

Die Kälber Nr. 1 und 3 bekamen am 5. Lebenstag, Kalb Nr. 2 am 3. Lebenstag 10 Millionen Oozysten/Sporozysten oral mit einer Spritze appliziert. Vor der Infektion untersuchte ich von jedem Kalb den Kot auf eventuelle Kryptosporidien. Weitere Proben wurden an das Institut für Mikrobiologie gegeben; dort erfolgte in dankenswerter Weise die Feststellung von Corona- und Rotaviren sowie von E. coli und anderen Darmkeimen.

Vom Infektionstag an entnahm ich täglich rektal Kot, überprüfte ihn mikroskopisch nach der Karbolfuchsinmethode und fertigte außerdem Giemsa-Ausstriche an. Die Auszählung erfolgte semiquantitativ und quantitativ im Nativpräparat. Gleichzeitig wurde die Kotkonsistenz festgehalten und die Temperatur rektal gemessen. Daneben entnahm ich dreimal wöchentlich Blut aus der V. jugularis und untersuchte folgende Blutwerte: Gesamteiweiß im Eppendorf-Digitalphotometer bei 546 nm Wellenlänge, Harnstoff mit Merckognost Teststreifen, Blutzucker mit Teststreifen im Reflomat (Labora, Mannheim), Haematokrit mit Haematokritröhrchen durch Zentrifugation 10 Minuten lang bei 10.000 Umdrehungen/Min.

sowie die Leukozytenzahl in einem Coulter Counter (Coulter Electronics).

Eine Reinfektion wurde bei den Kälbern Nr. 1 und 2 vier Wochen, bei Kalb Nr. 3 2 Wochen nach der Erstinfektion versucht. Ich verwendete dazu gesiebten Kot der Kälber Nr. 1 und 2 mit insgesamt 10 - 15 Millionen Kryptosporidien in 5 - 7 ml. Alle oben angeführten Untersuchungen wurden bis 8 Tage nach der zweiten Infektion fortgesetzt.

Zur Durchführung von orientierenden Desinfektionsversuchen gegen Kryptosporidien wurde von verschiedenen Kälbern im Alter von 7 - 28 Tagen rektal Kot entnommen und mit Hilfe der Karbolfuchsinmethode auf Dauerstadien untersucht. Hochpositive Faeces siebte ich zur Entfernung grober Bestandteile (Maschenweite 100 µm) und zentrifugierte anschließend 10 Minuten bei 180 g. Nachdem ich den Überstand mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt hatte, zählte ich die Oozysten/Sporozysten im Sediment aus. Das Material war bei Verwendung maximal 3 Wochen alt und so lange bei 5 °C gelagert worden.

Ich testete 4 Desinfektionsmittel, die nach den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) auf ihre antiparasitäre Wirkung geprüft waren. Dekaseptol (Chem. Fabrik Marienfelde, Hamburg), Lysococ (Schülke und Mayr, Hamburg) und Meysept-GS (Chem. Fabrik Apoth. Fr. Schmees, Twistringen) enthielten als Wirkstoffe Schwefelkohlenstoff, Phenole und außer Lysococ auch Chloroform. Bei Incicoc (Henkel, Düsseldorf) waren die Hauptbestandteile Phenole, Alkohole und Perchloräthylen.

Es wurden Lösungen mit Leitungswasser in den einfachen und den 1 1/2-fachen angegebenen Konzentrationen hergestellt. Zu jeweils 10 ml dieser Flüssigkeit kamen 2 ml Kälberkotmaterial mit 15 - 23 Millionen Kryptosporidien pro ml. Nach

gründlichem Verrühren in einem 50 ml-Erlenmeyerkolben wurde der Ansatz auf den Magnetrührer gebracht. Nach 10, 30, 60 und 120 Minuten, bei dem schwefelkohlenstofffreie Mittel auch nach 180 Minuten, entnahm ich 2 x 1 ml der Mischung und verbrachte sie in 25 ml-Zentrifugengläser. Zur Unterbrechung der Desinfektionswirkung wurden diese sofort mit Leitungswasser aufgefüllt und 3 Minuten bei 1000 U/min. (180 g) zentrifugiert. Der Überstand wurde mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und das Sediment erneut mit Leitungswasser aufgeschüttelt. Um Desinfektionsmittelreste möglichst vollständig zu entfernen, wurde dieser Vorgang zweimal wiederholt und schließlich das Sediment im Nativpräparat mit Karbolfuchsin mikroskopisch ausgewertet. Die Infektiosität des behandelten Kotmaterials überprüfte ich anschließend im Tierversuch.

Als Versuchstiere dienten neugeborene NMRI-Mäuse aus institutseigener Zucht. Jeder Wurf wurde zusammen mit dem Muttertier in einem Makrolonkäfig auf Weichholzgranulat (Altromin, Altrogge Lage-Lippe) gehalten und mit Pellets (Altromin-Haltungsdiäten) und Wasser ad libitum gefüttert.

Die Babymäuse infizierte ich im Alter von 5 ± 2 Tagen mittels Knopfkanüle oral mit mindestens 30.000 Kryptosporidien in 0,05 - 0,1 ml Material. Jede nach einer bestimmten Zeit entnommene Probe wurde an 3 - 4 Mäuse verabreicht; 2 Tiere dienten als Leerkontrolle und ein weiteres erhielt unbehandeltes Ausgangsmaterial. 6 Tage nach Inokulation wurden die Babymäuse getötet und von ihnen Dickdarm- und Enddarminhalt auf Kryptosporidien untersucht.

B. Ergebnisse

1. Oozysten/Sporozystenausscheidung und Klinik

Bei den Bestandsuntersuchungen zur Bestimmung der Befallshäufigkeit, des Beginns der Ausscheidung von Kryptosporidien im Kot und der Dauer und Höhe der Ausscheidung ergaben sich in allen 4 Betrieben ähnliche Ergebnisse. Insgesamt schieden von 72 untersuchten Kälbern 69 im Untersuchungszeitraum (von Geburt bis zum Alter von 4 - 5 Wochen) Kryptosporidien im Kot aus. Bei 1 Kalb aus Betrieb C und 2 Kälbern aus D konnten keine Oozysten/Sporozysten nachgewiesen werden.

Die Ausscheidung setzte bei mehr als 80 % der Tiere zwischen dem 6. und 15. Tag p.p. ein. In Betrieb A begann das letzte Kalb am 32. Tag p.p., in Betrieb B am 25. Tag p.p., während in Betrieb D der Beginn zwischen 6. und 32. Lebenstag gleichmäßig verteilt lag (Tab. 1).

Interessanterweise wurden in den Betrieben A, B und C bei fast allen Kälbern erstmals Kryptosporidien gefunden, bevor die Umstallung in Sammelboxen erfolgte. Ein Kalb aus A und 2 Kälber aus B zeigten ab 7. Tag nach Verbringen in Gemeinschaftsboxen zu älteren Tieren positiven Kot. Bei einem weiteren Fall aus B wurde der Parasit lediglich 2 und 9 Tage nach Verlegung nachgewiesen.

Im Gegensatz dazu infizierten sich in Betrieb D nur 4 Tiere in den Einzelboxen. 5 Kälber zeigten 6 - 9 Tage nach der Umstallung erstmals Dauerstadien im Kot, 2 weitere erst in der 5. Lebenswoche (15 bzw. 18 Tage nach Verlegung). Von diesen 7 Tieren waren 5 in einem separaten Kälberstall untergebracht zusammen mit 2 weiteren Tieren, die auch nach Umstallung kryptosporidienfrei blieben.

Betrieb	Zahl d. Tiere	Erstmalige Sporozystenausscheidung nach .. Tagen p.p.											
		6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-17	18-19	20-21	22-23	24-25	26-27	31-32
A	37	9	10	9	4	3	1	-	-	-	-	-	1
B	13	1	3	3	-	3	-	1	-	1	1	-	-
C	8	3	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	11	1	1	-	-	2	1	-	1	1	1	1	2
Gesamt	69	14	18	13	4	8	2	1	1	2	2	1	3

Tab. 1: Beginn der Kryptosporidienausscheidung im Kot von 69 Kälbern aus 4 Rinderzuchtbetrieben

Die Ausscheidung dauerte 3 - 13 Tage, wobei etwa 75 % der Kälber 6 - 10 Tage lang infektiösen Kot absetzten (Tab. 2).

Bestand	Zahl d. Kälber	Ausscheidungsdauer in Tagen bei .. Kälbern									
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
A	37		2	3	5		10	5	9	2	1
B	13		1	1	2	1	6	1	1		
C	8				3	2	3				
D	9	1	1			2	2	1		1	1
Gesamt	67	1	4	4	10	5	21	7	10	3	2

Tab. 2: Ausscheidungsdauer von Kryptosporidien im Kot von 67 Kälbern aus 4 Rinderzuchtbetrieben

Durchschnittlich betrug die Ausscheidungsdauer in jedem Betrieb 7 - 8 Tage. Während dieser Zeit stieg im allgemeinen die Zahl der Oozysten/Sporozysten im Kot relativ schnell an und sank langsamer wieder ab. Die Intensitätskurve zeigt, daß bereits bei Ausscheidungsbeginn hohe Werte gezählt wurden (Abb.1). Bei einzelnen Kälbern bestand nicht dieser typische Verlauf. In diesen Fällen lagen die Werte meist nicht höher als 1 Million/ml Kot. Die jeweils höchsten Ausscheidungen lagen im Betrieb A bei 74, in B bei 29,5, in C bei 63 und in D bei 58 Millionen Kryptosporidien pro ml Kot. Durchschnittlich ergaben sich Höchstwerte von 12,5 - 17,25 Millionen/ml Kot. Bei der vergleichenden semiquantitativen Bewertung von nach Giemsa gefärbten Präparaten und Ausstrichen mit Karbolfuchsin, die in Betrieb C durchgeführt wurden, stellten sich keine gravierenden Unterschiede heraus.

Von den 72 untersuchten Kälbern erkrankten 65 an Diarrhoe; allerdings waren von diesen nur 63 mit Kryptosporidien infiziert. Bei 43 Kälbern begann das Durchfallgeschehen 3 Tage vor bis 3 Tage nach Ausscheidungsbeginn. Bei 9 Tieren konnte an keinem Tag der Ausscheidung Kot mit weicher Konsistenz festgestellt werden. Insgesamt hatten 87 % aller infizierten Kälber während der Ausscheidungszeit gelblichen, wässrigen oder schleimigen Kot. Es kam auch grünlicher bis bräunlicher, dünn- bis mittelbreiiger Kot vor. Blut war selten enthalten.

Die Häufigkeit und Länge des Durchfallgeschens war in den einzelnen Betrieben verschieden. In Bestand A blieb nur ein Kalb durchfallfrei, während bei einem weiteren sich die Erkrankungszeit nicht mit der Kryptosporidieninfektion überschnitt. Häufig hielt der Durchfall noch lange über die Ausscheidungszeit hinaus, z. T. bis Untersuchungsende an. Zwei Tiere verendeten an wässriger Diarrhoe mit starker Exsikkose.

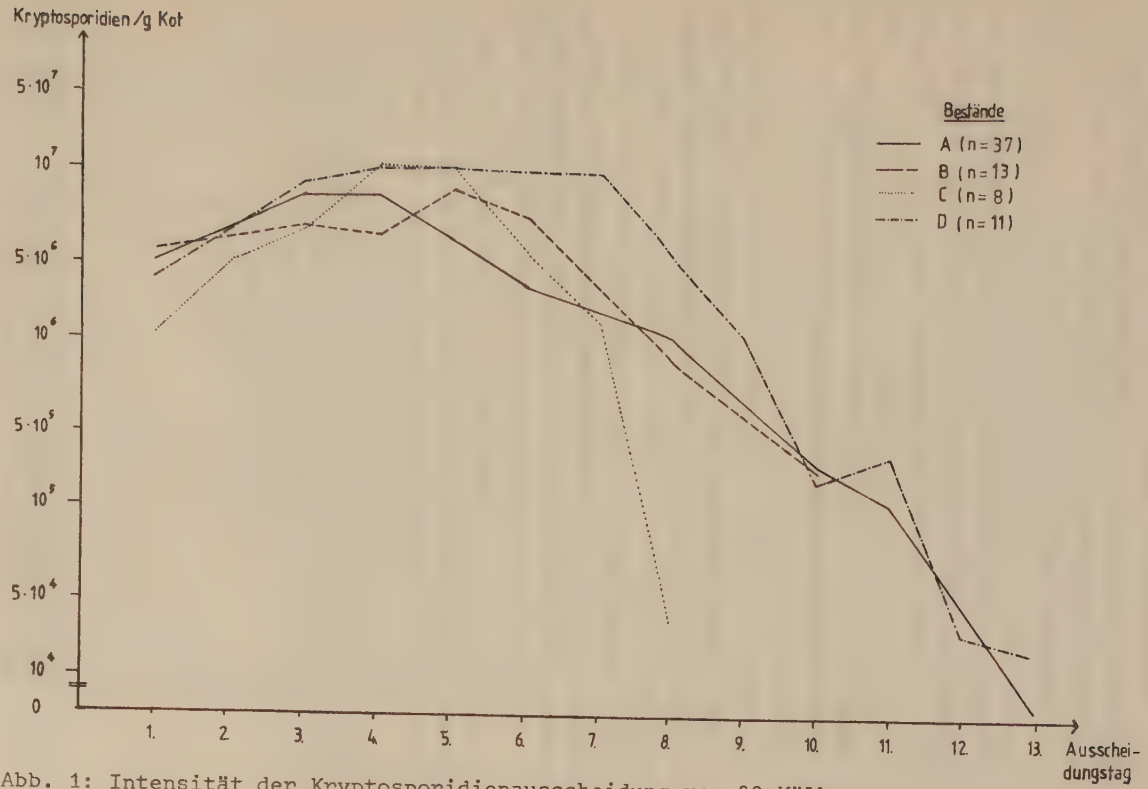

Abb. 1: Intensität der Kryptosporidienausscheidung von 69 Kälbern aus 4 Rinderzuchtbetrieben

Von den 13 untersuchten Tieren aus Bestand B zeigten 2 nie veränderten Kot und 5 nur 1 - 4 Tage lang. In Zuchtbetrieb C blieb nur ein Kalb ohne Durchfall, während er bei den übrigen 3 - 10 Tage dauerte.

In D erkrankten 2 infizierte und nur 1 kryptosporidienfreies Tier nicht an Enteritis. Bei den übrigen Tieren hielt die Diarrhoe meist nur wenige Tage an.

Ein Zusammenhang zwischen der Länge der Erkrankung und der Dauer oder Höhe der Kryptosporidienausscheidung konnte nicht festgestellt werden.

Die 3 experimentell infizierten Kälber schieden am Infektionstag keine Kryptosporidien aus. Die Ausscheidung begann bei 2 Kälbern 3 Tage p.i. und beim dritten bereits 1 Tag p.i.. Die Tiere waren zu diesem Zeitpunkt 6 und 8 Tage alt. Parasiten konnten 6 - 7 Tage lang nachgewiesen werden; während dieser Zeit erreichte die Ausscheidung Höchstwerte von 10,2, 10,5 und 12 Millionen Sporozysten pro ml Kot (Tab. 3).

Kalb Nr.	Ausscheidung von .. Millionen Sporozysten am .. Tag p.i.								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
1	-	-	0,1	7	12	5	9,5	2,5	0,3
2	-	-	0,1	6,3	0,15	8,1	10,5	2,2	0,1
3	5,6	0,9	2	10,2	2,5	0,1	-	-	-

Tab. 3: Höhe der Kryptosporidienausscheidung von 3 experimentell mit Kryptosporidien infizierten Kälbern in Millionen pro ml Kot.

Durchfall begann bei Kalb Nr. 1 am 3. Tag p.i. und dauerte 8 Tage. Der Kot war dabei dünnbreiig. Kalb Nr. 2 zeigte ab 3. Tag p.i. 18 Tage lang wässrigen bis schleimigen, zwischendurch auch dünnbreiigen Kot, teilweise mit Blutspuren. Kalb Nr. 3 begann bereits 2 Tage nach Inokulation für 9 Tage wässrigen Kot abzusetzen. Es wurde symptomatisch gegen Exsikkose behandelt, da es zu verenden drohte. Die Körpertemperatur stieg dabei geringgradig bis 39,6 °C an. Kalb Nr. 1 zeigte kein Fieber, während Kalb Nr. 2 kurzzeitig eine Rektaltemperatur von 40,1 °C erreichte. Zu diesem Zeitpunkt war jedoch die Sporozystenausscheidung bereits beendet.

Der Versuch, die Tiere nochmals zu infizieren, führte in keinem Fall zur Ausscheidung von Kryptosporidien im Kot während der darauffolgenden 8 Tage.

Bei den zweimal wöchentlich durchgeführten Blutuntersuchungen lagen die Werte für Gesamteiweiß zwischen 5,0 und 6,7 g% und für Harnstoff zwischen 17 und 42 mg%. Die Haematokritwerte schwankten zwischen 20 und 40 %; dabei waren die niedrigen Werte von Kalb 2 auf eine Anämie zurückzuführen, die schon vor der Infektion bestand. Bei diesem Tier stieg der Blutzuckerwert bis 150 mg%, während er bei den anderen Kälbern zwischen 60 und 120 mg% lag. Die Leukozytenzahlen wiesen auf eine Leukozytose bei den Kälbern Nr. 1 und 2 hin. Die mikrobiologische Untersuchung erbrachte enteropathogene E. coli, Enterokokken und Proteus vulgaris. Corona- und Rotaviren wurden nicht nachgewiesen.

2. Orientierende Laborversuche mit Desinfektionsmitteln

Bei den Desinfektionsversuchen wurde zunächst Dekaseptol untersucht. Laut Herstellerangabe und Desinfektionsmittelliste der DVG sollte die Gebrauchskonzentration 6 % und die Mindesteinwirkzeit 1 Stunde betragen. Nach Einwirkzeiten von 10, 30, 60 und 120 Minuten waren im Bodensatz der ausgewaschenen und zentrifugierten Proben mehr als 600.000 Kryptosporidien pro ml enthalten. Die Sporozysten waren morphologisch nicht verändert. Die mit jeweils 0,05 ml infizierten Babymäuse schieden alle nach 6 Tagen den Erreger massenhaft aus. Die Verwendung einer 9%-igen Konzentration brachte die gleichen unbefriedigenden Ergebnisse.

Das Desinfektionsmittel Meysept-GS wurde in 6%- und 9%-iger wässriger Lösung verwendet. Bereits nach 10 Minuten zeigten einige Kryptosporidien mikroskopisch eine rötliche Anfärbung der Randzone; nach 2 Stunden waren fast alle derartig verändert. Außerdem bewirkte das Präparat nach 60 Minuten eine Verringerung der Dauerformen im Nativausstrich. Dadurch ergaben sich Schwierigkeiten bei der Einhaltung der Mindestinfektionsdosis von 3×10^4 Kryptosporidien, da das Material nur mehr etwa 170.000 Parasiten pro ml enthielt und den Tieren nicht mehr als 0,1 ml appliziert werden konnte. So zeigten im Mäuseversuch bei beiden Konzentrationen nach 60-minütiger Dauer des Desinfektionsvorganges nur mehr 2 von 4 Tieren Kryptosporidien im Darminhalt. Nach 120 Minuten Einwirkzeit waren nur 2 von 7 bzw. 1 von 4 Versuchsmäusen infiziert. Diesem Desinfektionsmittel kann deshalb eine gewisse Wirksamkeit gegen Kryptosporidien nicht abgesprochen werden.

Die gleiche farbliche Veränderung der Oozysten/Sporozysten wurde durch Lysococ hervorgerufen. Das in 5%- und 7%-iger Lösung verwendete Mittel konnte auch nach 120 Minuten Ein-

wirkzeit auf kryptosporidienhaltigen Kot die Infektion der 4 Versuchstiere nicht verhindern.

Das schwefelkohlenstofffreie Desinfektionsmittel Incicoc zeigte ähnliche Wirkung wie Meysept. Sowohl in 5%- als auch in 7%-iger Konzentration trat nach 120 Minuten eine deutliche Verringerung der Dauerstadien beim Nachweis mit der Karbolfuchsinmethode und im Giemsa-Ausstrich auf; deshalb wurde der Versuch insgesamt dreimal durchgeführt. Auch hier zeigten einige Formen eine rosa Randzone. Bei Inokulation von 0,1 ml des sedimentierten Materials ging bei einer Konzentration von 7,5 % nach 180 Minuten bei 10 von 12 Versuchstieren die Infektion an.

Die Ergebnisse dieser Desinfektionsversuche sind in Tab. 4 zusammengefaßt.

Präparat	Konz. %	Wirksamkeit nach .. Minuten				
		10	30	60	120	180
Dekaseptol	6	-	-	-	-	
	9	-	-	-	-	
Meysept-GS	6	-	-	50%	70%	
	9	-	-	50%	75%	
Lysococ	5	-	-	-	-	
	7,5	-	-	-	-	
Incicoc	5	-	-	-	-	-
	7,5	-	-	-	-	17%

Tab. 4: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Kryptosporidien

Bei allen Versuchen waren die unbehandelten Kotproben für die Kontrolltiere infektiös. Nicht infizierte Leerkontrollen schieden keine Kryptosporidien aus.

Insgesamt konnte keines der getesteten Desinfektionsmittel die Kryptosporidien sicher abtöten und damit eine Weiterverbreitung der Infektion verhindern.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Im Rahmen meiner Arbeit stellte ich zunächst fest, wie häufig in verschiedenen Beständen in der Umgebung Münchens Kryptosporidien bei Kälbern vorkommen. Eine dreimal wöchentlich durchgeführte koproskopische Untersuchung ergab, daß 85 - 100 % der Tiere im Alter zwischen 6 Tagen und 4 Wochen der überprüften 4 Rinderzuchtbetriebe infiziert waren. 3 Kälber schieden erst in der 5. Lebenswoche aus.

Zu einer ähnlichen Befallsrate kamen PEETERS, VAN OPDENBOSCH und GLORIEUX (1982) in Belgien; dort konnten bei regelmäßigen Untersuchungen in 17 von 20 Kälbern Dauerstadien im Kot nachgewiesen werden. Die übrigen Autoren fanden bei einmaliger Untersuchung von Durchfallkälbern, die zum Teil bereits verendet waren, den Parasiten in 16 % (HENRIKSEN und KROGH, 1980), in 27 % (NAGY, ANTAL und LAKNER, 1980), in 28 % (NAGY und POHLENZ, 1982), in 31 % (MORIN , LARIVIERE und LALLIER, 1976), in 35% (POHLENZ und Mitarb., 1978) und in 60 % (TZIPORI und Mitarb., 1980b; JERRET und SNODGRASS, 1981) der Tiere. Dabei schwankte die Bestandshäufigkeit zwischen 0 und 100 % in Ungarn und der Schweiz und 30 und 70 % in Australien. HEINE und BOCH (1981) fanden bei ihren einmaligen Untersuchungen in Deutschland bei 39,6 % der Durchfallkälber, FIEDLER, BÄHR und HIRCHERT (1982) bei 37.6 % aller Proben Kryptosporidien.

Wie JERRET und SNODGRASS (1981) diagnostizierte ich bei etwa 85 % der durchfallfreien Kälber den Erreger, HEINE und BOCH (1981) dagegen nur bei 13,7 %. NAGY und POHLENZ (1982) wiesen bei 36 gesunden Kälbern aus Ungarn und der Schweiz sogar nur einmal eine Infektion nach. Unter Berücksichtigung der nur einmaligen Durchführung dieser Untersuchungen und der

Wahrscheinlichkeit der Erfassung der Tiere genau während der Ausscheidungszeit erscheint die Befallsrate in allen Ländern als sehr hoch.

Die Ausscheidung von Kryptosporidien begann frühestens am 6. Tag p.p. und spätestens am 32. Tag p.p.. Auch TZIPORI und Mitarb. (1980b), KIUPEL und BERGMANN (1982) sowie HEINE und BOCH (1981) fanden erst bei Kälbern ab dem 6. - 7. Lebenstag Kryptosporidien im Kot, wobei die ältesten positiven Tiere 17 und 28 Tage alt waren. ANDERSON (1981) wies den Erreger 5 - 12 Tage p.p. nach; JERRET und SNODGRASS (1981) beobachteten bereits 4 Tage alte Kälber mit Kryptosporidien.

Die Dauer der Ausscheidung betrug 3 - 13 Tage, nach ANDERSON (1981) 3 - 12 Tage bei täglicher Untersuchung. PEETERS, VAN OPDENBOSCH und GLORIEUX (1982) dagegen sahen eine Patenz von 21 Tagen; durchschnittlich wurden 11 Tage, bei meinen Untersuchungen 7 - 8 Tage lang Sporozysten ausgeschieden.

Bezüglich der Höhe der Ausscheidung liegen in der Literatur keine genauen Angaben vor. Die von mir untersuchten Tiere erreichten Höchstwerte von weniger als 1 Million bis 74 Millionen Sporozysten pro ml Kot. Lediglich PEETERS, VAN OPDENBOSCH und GLORIEUX (1982) führten eine semiquantitative Auswertung durch. Sie fanden in einer Großmästerei, wo die Kälber einzeln in Einheiten von 60 Tieren gehalten wurden, die höchste Ausscheidungsrate 10 Tage nach Verbringen in den Maststall. Allerdings zeigten auch bei ihren Untersuchungen, wie bei den meinen, einige Kälber nur eine geringgradige Ausscheidung.

Da alle Kälber in einem Stall dem gleichen Infektionsdruck ausgesetzt sind und unter den selben Haltungs-, Fütterungs- und Pflegebedingungen leben, müssen die Unterschiede im Infektionsverlauf individuell bedingt sein. Möglicherweise

spielt die Höhe der Infektionsdosis eine Rolle; SCHLOEMER (1982) stellte bei experimentell infizierten Mäusen fest, daß bei Aufnahme nur geringer Mengen infektionsfähiger Sporozysten die Präpatenzzeit verlängert und die Ausscheidungsrate verringert waren.

Übereinstimmend stellen alle Autoren fest, daß sich die Kälber in den ersten Lebenswochen mit Kryptosporidien infizieren. Die von mir untersuchten Tiere befanden sich zum Zeitpunkt der Infektion zum größten Teil noch in Einzelboxen, in die sie sofort nach der Geburt verbracht wurden. Nur wenige waren bereits in größeren Einheiten zusammen mit gleichaltrigen oder älteren Tieren aufgestallt. Über die Haltungsbedingungen sind in der Literatur meist keine Angaben vorhanden, da die Tiere aus verschiedenen kleineren und größeren Betrieben kamen und häufig erst nach Einlieferung in eine Klinik oder ein Institut untersucht wurden. NAGY und POHLENZ (1982) stellten fest, daß die Tiere aus Fleischproduktions- und Milchproduktionsbetrieben gleich betroffen waren.

In den von mir untersuchten 4 Zuchtbetrieben unterschieden sich die Infektionszeitpunkte etwas von Betrieb zu Betrieb. So begann in Bestand C bei allen Tieren die Ausscheidung zwischen dem 6. und 10. Lebenstag, in den Betrieben A und B nur vereinzelt nach dem 15. Tag p.p.. Dagegen schieden in Bestand D 7 von 11 Kälbern erst nach 16 Tagen erstmals Kryptosporidien aus. 4 Tiere infizierten sich hier in Einzelboxen, die sich im Kuhstall befanden. Andererseits begannen 5 Tiere aus einem Kälberstall frühestens 6 Tage nach der Umstallung mit der Sporozystenausscheidung, 2 Kälber blieben sogar kryptosporidienfrei. Daraus schließe ich, daß dieser Kälberstall nicht mit Kryptosporidien verseucht war. Da nach SCHLOEMER (1982) eine Mindestmenge an Sporozysten oral aufgenommen werden muß, um bei Mäusen eine Infektion hervorzurufen, besteht die Möglichkeit, daß der Erreger in zu gerin-

ger Menge vorhanden war, um Kälber infizieren zu können. In den anderen Stallabteilungen der Betriebe infizierten sich die Kälber meist in den Einzelboxen, die offensichtlich stark mit Kryptosporidien kontaminiert waren.

Daß in einem Gebiet nicht alle Bestände von der Infektion betroffen sein müssen, stellten NAGY, ANTAL und LAKNER (1980), FIEDLER, BÄHR und HIRCHERT (1982) sowie JERRET und SNODGRASS (1981) fest; sie fanden 35 - 55 % der Betriebe mit Kryptosporidien verseucht. Andererseits zeigen meine Untersuchungen, daß auch in einem kontaminierten Betrieb nicht in allen Stallabteilungen die Infektion stattfindet. Interessanterweise blieb in Bestand C ein Kalb in den ersten 4 Lebenswochen negativ, das in einer Stalleinheit mit positiven Tieren unter gleichen Haltungsbedingungen aufgestallt war.

Von den 69 infizierten Kälbern erkrankten 87 % während der Ausscheidung von Kryptosporidien an Diarrhoe. Die Untersuchungen von HEINE und BOCH (1981) sowie JERRET und SNODGRASS (1981) weisen 60 - 70 %, diejenigen von NAGY und POHLENZ (1982) höhere Werte aus. Allerdings dürfen als Ursache für die Enteritis Kryptosporidien nicht allein verantwortlich gemacht werden, zumal andere enteropathogene Erreger nicht ausgeschlossen werden konnten. Jedoch schien im Bestand A eine längere Erkrankungszeit zu bestehen, als in den drei kleineren Beständen.

Zwei der 3 experimentell infizierten Kälber schieden 3 Tage p.i. Kryptosporidien im Kot aus. Beim 3. Kalb, das bereits am Tage nach der Inokulation positiven Kot absetzte, kann eine bereits vorher vorhandene Infektion nicht ausgeschlossen werden. Allerdings beschrieben MOON und BEMRICK (1981) ein Kalb mit einer derart kurzen Präpatenzzeit, während sie bei den anderen experimentell infizierten Tieren durchschnittlich 4,4 Tage betrug. TZIPORI und Mitarb. (1980c)

fanden bei 2 Kälbern erst 9 Tage nach der Inokulation und nur 2 Tage lang den Erreger im Kot. Diese Unterschiede lassen sich möglicherweise durch verschiedene Infektionsdosen, unterschiedliches Alter der Tiere oder Ungenauigkeit der Nachweismethoden erklären.

Die Höchstzahl der ausgeschiedenen Sporozysten lag zwischen 10,2 und 12 Millionen/g Kot. Diese Werte und auch die Ausscheidungsdauer von 6 - 7 Tagen entsprechen etwa denen der natürlich infizierten Tiere. MOON und BEMRICK (1981) konnten die Parasiten durchschnittlich 10 Tage lang nachweisen und gleichzeitig Durchfall beobachten. Auch eines der von mir infizierten Kälber setzte während der Ausscheidung dünnbreiigen Kot ab; bei den beiden anderen dauerte die wässrige Diarrhoe darüberhinaus an und führte bei einem Tier sogar zu lebensbedrohlicher Exsikkose. Der Kot dieses Kalbes enthielt enteropathogene E. coli, jedoch keine Rota- oder Coronaviren. NAGY, ANTAL und LAKNER (1980) fanden bei drei nur mit Kryptosporidien infizierten Tieren mit Durchfall keine anderen Erreger.

Die Leukozytose bei 2 Versuchstieren ist möglicherweise als Reaktion auf das Infektionsgeschehen zu bewerten. Bemerkenswert erscheint mir dabei, daß das am schwersten erkrankte Kalb keine Erhöhung der Leukozytenzahlen zeigte.

Eine Reinfektion von Kälbern 2 und 3 Wochen nach der Erstinfektion gelang nicht. Dies ist wohl auf eine entsprechende Immunantwort des Wirtes zurückzuführen. So hörten nach Beobachtungen von MEISEL und Mitarb. (1976) beim Menschen die Kryptosporidienausscheidung und die Diarrhoe nach Absetzen von immunsuppressiven Medikamenten auf.

Die orientierenden Desinfektionsversuche brachten keine zufriedenstellenden Ergebnisse; keines der getesteten Mittel

zeigte eine ausreichende Wirksamkeit zur Abtötung von Kryptosporidiensporozysten. Weder Dekaseptol noch Lysococ konnten in 1 1/2-facher Konzentration eine Infektion von Versuchsmäusen verhindern. Dies entspricht den Ergebnissen von SCUPIN und HENNE (1975) sowie EL-MOUKDAD (1976) mit Dekaseptol und Lysococ und denjenigen von STEDE (1971) mit Lysococ bei sporulierten Eimeria-Oozysten. Dagegen konnten ENIGK (1949) bereits mit 6 % Dekaseptol versporte Kokzidienoozysten in 9 Minuten, JANITSCHKE und JÖRREN (1972) mit 9 % Dekaseptol sporulierte Toxoplasma-Oozysten in 10 Minuten abtöten. Nach HILBRICH (1975) erwies sich 5 % Lysococ als brauchbares Desinfektionsmittel gegen sporulierte Oozysten von E. tenella.

Meysept-GS als weiteres schwefelkohlenstoffhaltiges Präparat zeigte eine gewisse Wirkung, da nach 60 Minuten nur mehr wenige Dauerstadien nachweisbar waren; mit zunehmender Einwirkdauer färbte sich die Randzone der Kryptosporidien etwas an. Da die Hülle bei intakten Kryptosporidienoozysten/-sporozysten von Karbolfuchsin nicht durchdrungen wird (HEINE, 1982), liegt hier möglicherweise eine Schädigung der Membranen vor. Als Folge wäre vorstellbar, daß die veränderten Formen nicht mehr feststellbar sind. Die Verringerung der Sporozysten schien mir entscheidend dafür zu sein, daß nur mehr ein Teil der Versuchstiere infiziert werden konnte und diese nur schwachen bis mäßigen Befall zeigten.

Das schwefelkohlenstofffreie Incicoc bewirkte ähnliche Veränderungen der Kryptosporidien, jedoch erst ab 120 Minuten Einwirkzeit. Trotzdem ließen sich hier bei 3 Versuchsansätzen alle Babymäuse infizieren, denen mit 5 % Incicoc 180 und mit 7,5 % Incicoc 120 Minuten lang behandelter kryptosporidienhaltiger Kot appliziert worden war. BARUTZKI (1980) konnte mit 5 % Incicoc, nach 10 Minuten Einwirkung, nur bei Sarcocystis suicanis-Sporozysten die Exzystierung verhindern.

Insgesamt schienen Kryptosporidiensporozysten im Kot der Kälber gegen Desinfektionsmittel sehr widerstandsfähig zu sein.

V. Zusammenfassung

In 4 Rinderzuchtbetrieben im Raum München wurden 72 neugeborene Kälber bis zum Alter von 4 - 5 Wochen 3 mal wöchentlich auf Kryptosporidien untersucht. 69 Tiere schieden, meist zwischen dem 6. und 15. Lebenstag beginnend, 3 - 13 Tage lang Kryptosporidiensporozysten aus. Die Ausscheidungsmenge erreichte Maximalwerte von weniger als 1 bis 74 Millionen Dauerstadien/g Kot.

Die meisten Jungtiere schieden erstmals Kryptosporidien aus, während sie sich noch in den Kälber-Einzelboxen befanden, in die sie unmittelbar nach der Geburt verbracht wurden. In einem Betrieb erfolgte die Infektion erst nach Umstallung der Kälber in einen Laufstall. 87 % der befallenen Kälber zeigten eine mittel- bis hochgradige Diarrhoe für unterschiedlich lange Zeit.

Die experimentelle Infektion von 3 Tieren im Alter von 3 - 5 Tagen führte bei allen zur Ausscheidung von Kryptosporidien. Gleichzeitig erkrankten die Kälber an Durchfall. Eine Reinfektion 2 - 3 Wochen nach Erstinfektion gelang nicht.

In orientierenden Laborversuchen wurden 4 Desinfektionsmittel sowohl in der vom Hersteller empfohlenen als auch in der 1 1/2-fachen Gebrauchskonzentration getestet. Keines der Präparate konnte nach Einwirkzeiten von 120 - 180 Minuten auf infektiösen Kot Kryptosporidiensporozysten sicher abtöten.

Stein, E.: Course of the cryptosporidial infection in calves on cattle breeding farms and possibilities of disinfection

Summary

Seventytwo newborn calves on 4 cattle breeding farms in the Munich area have been examined three times a week up to the age of 4 - 5 weeks. Sixtynine calves discharged cryptosporidial sporocysts for 3 - 13 days, mostly starting from day 6 to day 15 after birth. The amount of excretion rose up to maximum figures from less than 1 million up to 74 million sporocysts/g faeces.

Most of the calves first shed cryptosporidia while occupying single boxes to which they had been transferred immediately after birth. In one of the four farms infection started only after the animals were put together into groups. Of the infected calves, 87 % showed serious diarrhoea over different periods of time.

Three calves, 3 - 5 days old, were experimentally infected. They shed cryptosporidia and developed diarrhoea. A reinfection 2 - 3 weeks later caused no shedding of sporocysts.

Preliminary tests were conducted in the laboratory investigating the efficiency of 4 disinfectants. The tests were run with concentrations recommended by the producers and increased concentrations. No total loss of infectivity could be demonstrated when infectious faeces were incubated for 120 - 180 minutes.

VI. Literaturverzeichnis

Anderson, B.C. (1981): Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 178, 982-984

Anderson, B.C., T. Donndelinger, R.M. Wilkins, J. Smith (1982): Cryptosporidiosis in a veterinary student.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 408-409

Antoine, H., P. Pivont, R. Gregoire, J. Bughin (1981): Cryptosporidiose intestinale chez deux veaux nouveau- nés.
Le Point Vétérinaire 12, 31-32

Barker, I.K., P.L. Carbonell (1974): Cryptosporidium agni sp. n. from lambs, and Cryptosporidium bovis sp.n. from a calf, with observations on the oocyst.
Z. Parasitenk. 44, 289-298

Barutzki, D. (1980): Untersuchungen über die Wirksamkeit handelsüblicher Desinfektionsmittel auf Kokzidien-Oozysten bzw. Sporozysten (Eimeria, Cystoisospora, Toxoplasma und Sarcocystis) sowie auf Spulwurmeier (Ascaris, Toxocara) im Suspensionsversuch.
Vet. med. Diss., München

Boch, J., E. Göbel, J. Heine, U. Brändler, L. Schloemer (1982): Kryptosporidien-Infektion bei Haustieren.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95, 361-367

Booth, C.C., G. Slavin, R.R. Dourmashkin, I. Doniach (1980): Clinicopathological conference: Immunodeficiency and cryptosporidiosis.
Brit. Med. J. 281, 1123-1127

Brändler, U. (1982): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Entwicklung von Cryptosporidium sp. im Darm experimentell infizierter Mäuse.
Vet. med. Diss., München

El-Moukdad, A.R. (1976): Über die Wirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf parasitäre Entwicklungsstadien.
I. Die Wirkung auf Kokzidien-Oozysten. Wien. tierärztl. Mschr. 63, 399-405

Enigk, K. (1936): Untersuchungen über die Abtötung der Spulwurmeier und Kokzidienoozysten durch Chemikalien.
Arch. wiss. prakt. Tierheilk. 70, 439-448

Enigk, K. (1949): Die Gehegedesinfektion.
Dtsch. Pelztierzüchter 23, 121-124

Enigk, K. (1979): Resistenz der Dauerformen von Endoparasiten der Haustiere.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 491-497

Enigk, K., P. Hilbrich (1968): Die Stalldesinfektion bei Parasitosen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 75, 488-492

Fiedler, H.H., K.H. Bähr, R. Hirchert (1982): Beitrag zur Kryptosporidieninvasion bei Kälbern.
Tierärztl. Umschau 37, 497-500

Hage-Noordam, A.W., J.M.A. Pol, P.W. de Leeuw (1982): Cryptosporidium in veal calves affected with cachexia.
Tijdschr. Diergeneesk. 107, 497-502

Heide von der, G. (1973): Ausarbeitung standardisierter labormäßiger Prüfmethoden für parasitizide Desinfektionsmittel.
Vet. med. Diss., Hannover

Heine, J. (1982): Eine einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot.
Zbl. Vet. Med. B 29, 324-327

Heine, J., J. Boch (1981): Kryptosporidien-Infektionen beim Kalb. Nachweis, Vorkommen und experimentelle Übertragung.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 94 , 289-292

Henriksen, S.A., H.V. Krogh (1980): A note on bovine infections with cryptosporidia in Denmark.
Nord. Vet. Med. 32, 501

Hilbrich, P. (1975): Desinfektionsversuche an Eimeria tenella-Oozysten. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 144-148

Howerth, E.W. (1981): Bovine cryptosporidiosis.
J. S. Afr. Vet. Ass. 52, 251-253

Janitschke, K., H.R. Jörren (1972): Untersuchungen über die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf sporulierte Oozysten von Toxoplasma gondii.
Bundesgesundheitsblatt 15, 183-186

Jerret, I.V., D.R. Snodgrass (1981): Cryptosporidia associated with outbreaks of neonatal calf diarrhoea.
Austr. Vet. J. 57, 434-435

Kiupel, H., V. Bergmann (1982): Nachweis von Kryptosporidien bei Kälbern mit Diarrhoe. Mh. Vet. Med. 37, 392-393

Lasser, K.H., K.J. Lewin, F.W. Ryning (1979): Cryptosporidial enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinemia. Human Path. 10, 234-240

Meisel, J.L., D.R.Perera, C. Meligro, C.E. Rubin (1976): Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. Gastroenterology 70, 1156-1160

Meuten, D.J., H.J. van Kruiningen, D.H. Lein (1974): Cryptosporidiosis in a calf. J. Am. Vet. Med. Assoc. 165, 914-917

Moon, H.W., W.J. Bemrick (1981): Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. Vet. Path. 18, 248-255

Morin, M., S. Larivière, R. Lallier (1976): Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhoea. Can. J. Comp. Med. 40, 228-240

Nagy, B., A. Antal, F. Rátz (1979): Über das Auftreten von Cryptosporidiose der Kälber in Ungarn. Magyar Állat. Lapja 34, 585-588

Nagy, B., A. Antal, J. Lakner (1980): Significance of intestinal cryptosporidiosis in calf diarrhea. 2nd Intern. Symp. Vet. Labor. Diagn., Lucerne, Abstr. 128, 431-434

Nagy, B., J. Pohlenz (1982): Die bovine Cryptosporidiose: Diagnose und Therapie. Tierärztl. Praxis 10, 163-172

Nime, F.A., J.D. Burek, D.L. Page, M.A. Holscher, J.H. Yardley (1976): Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium. Gastroenterology 70, 592-598

Panciera, R.J., R.W. Thomassen, F.M. Garner (1971): Cryptosporidial infection in a calf. Vet. Path. 8, 479-484

Pavlásek, I. (1981): First record of Cryptosporidium sp. in calves in Czechoslovakia. Folia Parasit. (Praha) 28, 187-189

Pearson, G.R., E.F. Logan (1978): Demonstration of cryptosporidia in the small intestine of a calf by light, transmission electron and scanning electron microscopy. Vet. Rec. 103, 212-213

Peeters, J.E., E. Van Opdenbosch, B. Glorieux (1982): Demonstration of cryptosporidia in calf faeces: A comparative study. Vlaams Diergeneesk. Tydschr. 51, im Druck

Pivont, P., H. Antoine, R. Gregoire, J. Bughin (1981): Cryptosporidies chez un veau nouveau-né. Ann. Méd. Vét. 125, 557-559

Pohlenz, J. (1980): Bovine Cryptosporidiosis. Assiut Vet. Med. J. 7, Suppl. 1, 37-41

Pohlenz, J., H.W. Moon, N.F. Cheville, W.J. Bemrick (1978): Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172, 452-457

Pol, J.M.A., B.E.C. Schreuder, G.J. Kok, P.W. de Leeuw (1982): Cryptosporidium : a "new" factor in the aetiology of neonatal diarrhoea in calves. Tijdschr. Diergeneesk. 107, 503-510

Powell, H.S., M.A. Holscher, J. E. Heath, F.F. Beasley (1976): Bovine Cryptosporidiosis. Vet. Med./Small Anim. Clin. 71, 205-207

Reese, N.C., W.L. Current, J.V. Ernst, W.S. Bailey (1982): Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. Am. J. Trop. Med. Hyg. 31, 226-229

Schloemer, L. (1982): Die Übertragung von Cryptosporidium spec. des Kalbes auf Mäuse, Hamster und Meerschweinchen sowie Schweine, Schafe und Ziegen. Vet. med. Diss., München

Schmitz, J.A., D.H. Smith (1975): Cryptosporidium infection in a calf. J. Am. Vet. Med. Assoc. 167, 731-732

Scupin, E. (1977): Desinfektionsversuche an parasitären Dauerformen. Gutachten, Tierärztl. Institut der Universität Göttingen

Scupin, E., A. Henne (1975): Prüfung neuerer Desinfektionsmittel auf ihre oozystenabtötende Wirkung bei Geflügelkokzidien. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 30-34

Sloper, K.S., R.R. Dourmashkin, R.B. Bird, G. Slavin, A.D.B. Webster (1982): Case report: Chronic malabsorbtion due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. Gut 23, 80-82

Snodgrass, D.R., K.W. Angus, E.W. Gray, W.A. Keir (1980): Cryptosporidia associated with rotavirus and Escherichia coli in an outbreak of calf scour. Vet. Rec. 106, 458-459

Stede, G. (1971): Desinfektionsversuche mit Lysococ an Kokzidienoozysten und Askarideneiern. Vet. med. Diss., FU Berlin

Tyzzer, E.E. (1907): A sporozoon found in the peptic glands of the common mouse.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 5, 12-13

Tyzzer, E.E. (1910): An extracellular coccidium, Cryptosporidium muris (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse.
J. Med. Res. 23, 487-509

Tyzzer, E.E. (1912): Cryptosporidium parvum (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Parasitenk. 26, 394-412

Tzipori, S., K.W. Angus, E.W. Gray, I. Campbell (1980a): Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection.
New Engl. J. Med. 303, 818

Tzipori, S., I. Campbell, D. Sherwood, D.R. Snodgrass (1980b): An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection. Vet. Rec. 107, 579-580

Tzipori, S., K.W. Angus, I. Campbell, E.W. Gray (1980c): Cryptosporidium: Evidence for a single-species genus.
Infect. Immun. 30, 884-886

Tzipori, S. (1981): The aetiology and diagnosis of calf diarrhoea. Vet. Rec. 108, 510-514

Weisburger, W.R., D.F. Hutcheon, J.H. Yardley, J.C. Roche, W.D. Hillis, P. Charache (1979): Cryptosporidiosis in an immunosuppressed renal-transplant recipient with IgA deficiency.
Am. J. Clin. Path. 72, 473-478.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gerne gewährte Unterstützung.

Bei Herrn Dr. J. Heine möchte ich mich für die Anleitungen zu meiner Arbeit und seinen fachlichen Rat bedanken.

Mein Dank gilt ebenso den Leitern der 4 Rinderzuchtbetriebe und ihren Mitarbeitern für die Ermöglichung meiner Untersuchungen und die Unterstützung bei der Probenentnahme.

Lebenslauf

Name:	Evelyne Justina Stein, geb. 10. Mai 1951 in München
Eltern:	Michael Stein Johanna Stein, geb. Frei
Schulbildung:	1957 - 1961 Volksschule in München 1961 - 1967 Neusprachl. Gymnasium in München
Beruf:	1967 - 1972 Banklehre in München und anschl. Berufstätigkeit
Weiterbildung:	1973 - 1975 Münchenkolleg, Abschluß Abitur
Studium:	1975 - 1976 TU München 1976 - 1977 Studium der Tiermedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen 1977 - 1981 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Tierärztliche Prüfung:	Dezember 1981
Approbation:	März 1982 Seit Januar 1982 am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München